

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.
Vol. 18, 1980, pp. 591–593

Direktbestimmung von Aluminium in Serumproben mittels Inductively Coupled Plasma (ICP)-Emissionsspektralanalyse

Von P. Schramel, A. Wolf

Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung mbH, Physikalisch-Technische Abteilung, Neuherberg und

B.-J. Klose

Frauenklinik, Kreiskrankenhaus Erding

(Eingegangen am 5. Dezember 1979/23. April 1980)

Zusammenfassung: Die Anwendbarkeit der ICP (Inductively Coupled Plasma)-Emissionsspektralanalyse für die direkte Bestimmung von Aluminium in Blutserum wird untersucht und die verwendete Methode beschrieben. Auf Grund der hohen Anregungstemperatur in einem Plasma treten dabei die von der Atomabsorptionsspektroskopie her bekannten chemischen Matrixeinflüsse nicht auf, so daß ein sehr empfindlicher und gut reproduzierbarer Nachweis möglich ist.

Determination of aluminium in blood-serum by Inductively Coupled Plasma (ICP)-Spectroscopy

Summary: The application of ICP emission spectroscopy for the direct determination of aluminium in blood serum was investigated and the method with all important parameters is described. The well known matrix interferences in atomic absorption spectroscopy do not exist in ICP spectroscopy, due to the very high excitation temperature of the sample of about 8000 K. It is therefore possible to perform very sensitive and reproducible measurements.

Einleitung

Die Bestimmung von Aluminium in menschlichem und tierischem Blutserum gewinnt immer mehr an Bedeutung, da bisher über die Aufnahme, Verteilung und Wirkungsmechanismen dieses Elements im Organismus nur sehr wenige und unvollständige Daten vorliegen. Andererseits gelangt aber Al auf vielfältige Weise in den menschlichen Organismus. Als Beispiele seien hier angeführt:

1. Al wird in großen Mengen bei der Herstellung und bei der Verpackung von Nahrungsmitteln verwendet,
2. Al-Sulfat wird teilweise in der Aufbereitung von Trinkwasser zur Sedimentierung eingesetzt, und
3. Al und dessen Verbindungen werden als Therapeutika, z. B. zur Behandlung der Hyperphosphatämie bei Nierenerkrankungen und zum Senken der Magensäurekonzentration, z. B. bei Gastritis, verwendet.

Vor allem der Zusatz von Al zur Dialyseflüssigkeit, um Phosphate an Al zu binden und aus dem Körper auszuscheiden, wobei die Resorption des Aluminium und

dessen Wirkung bzw. Wechselwirkung in den verschiedenen Organen nicht geklärt ist (1, 2, 3), machen eine Überwachung bzw. eine eingehende Untersuchung der Al-Konzentration im Blutserum notwendig. Es gibt sogar Hinweise dafür, daß das „Dialyse-Enzephalopathie-Syndrom“ durch eine Al-Intoxikation hervorgerufen wird (4).

Alle diese Fragestellungen machen eine empfindliche und genaue Methode zur Bestimmung von Al in Gewebe und Körperflüssigkeiten notwendig. Bisher wurden für die Bestimmung der Al-Konzentration im Blutserum hauptsächlich zwei Verfahren eingesetzt:

1. die flammenlose Atomabsorptionsspektroskopie und
2. die instrumentelle Neutronenaktivierungsanalyse.

Die instrumentelle Neutronenaktivierungsanalyse setzt das Vorhandensein eines geeigneten Reaktors (D_2O -moderiert wegen Störreaktionen durch schnelle Neutronen) sowie eines geeigneten Meßplatzes zur Gamma-Spektroskopie in unmittelbarer Reaktornähe (wegen

der kurzen Halbwertszeit von ^{28}Al von 2,3 min) voraus und ist deshalb in den meisten Fällen für die Routine nicht einsetzbar.

Der Nachweis mit der flammenlosen Atomabsorptionsspektroskopie ist zwar möglich und wird in der Routine auch meist angewendet, doch treten oft erhebliche Schwierigkeiten bei der Pipettierung von Serum in das Graphitrohr auf, so daß die erhaltenen Ergebnisse meist keine befriedigende Reproduzierbarkeit aufweisen. Auch treten bei diesem Verfahren aufgrund der notwendigen hohen Temperatur im „thermischen Vorbehandlungsschritt“ im Graphitrohr bereits vor der Atomisierung Verluste an Aluminium auf, jedoch nur bei Anwesenheit von Chlor und den sich dadurch bildenden flüchtigen Chlorverbindungen (5). Aus diesen Gründen wurde versucht, die ICP-Emissionsspektalanalyse für diese Untersuchungen einzusetzen.

Material und Methoden

Proben

Zur Erarbeitung und zum Testen dieser Methode standen 20 verschiedene Serumproben eines Normalkollektivs einer anderen Untersuchungsreihe zur Verfügung. Die Proben wurden tiefgefroren (-25°C) gelagert und vor der Analyse aufgetaut und 1:2 mit bidest. H_2O verdünnt.

Prinzip

Die Analysen wurden mittels Inductively Coupled Plasma (ICP)-Emissionsspektalanalyse ausgeführt. Das Inductively Coupled Plasma stellt für die Emissionsspektalanalyse eine relativ neue und sehr wirksame Form der Anregung dar und daher eignet sich diese Methode u.a. besonders gut zur Bestimmung von Spurenelementen in biologischen Materialien. Sehr niedrige Nachweisgrenzen (meist im Konzentrationsbereich $\mu\text{g/l}$ (ppb)) und die Möglichkeit der simultanen Bestimmung von vielen Elementen machen sie heute zu einem echten Konkurrenzverfahren der meist doch sehr aufwendigen Neutronenaktivierungsanalyse. Die sehr hohe Anregungstemperatur der Probe von etwa 8000 K vermeidet dabei auch die von der Atomabsorptionsspektroskopie her hinlänglich bekannten und unerwünschten Matrixeffekte, da bei dieser hohen Temperatur praktisch keine chemischen Verbindungen mehr vorliegen. Allerdings ist auch bei der ICP-Emissionsspektalanalyse, ähnlich wie bei der Atomabsorptionsspektroskopie, die Aerosolbildung aus der Probelösung ein sehr wichtiger Faktor (6). Für die Zerstäubung der Probe in der ICP-Emissionsspektalanalyse stehen heute zwei Verfahren zur Verfügung:

1. der pneumatische Zerstäuber und
2. der Ultraschallzerstäuber.

Im vorliegenden Fall wurde mit einem pneumatischen Zerstäuber gearbeitet. Nach der Zerstäubung wird das Aerosol in den heißen Kern eines Argonplasmas injiziert und passiert dann einen Tunnel, der von einem ringförmigen Plasma der oben erwähnten hohen Temperatur umgeben ist. Dabei werden die Probenpartikel atomisiert und angeregt, so daß sie durch ihre Strahlenemission qualitativ und quantitativ nachgewiesen werden können.

Durchführung

Die Messungen wurden an einem ICP-Emissionsspektrometer der Fa. Instruments S.A. der Type JY38 (Sequenzspektro-

meter) mit angeschlossener PDP 11/03 (zur Auswertung und Prozeßsteuerung) durchgeführt. Die maximale Leistung des Hochfrequenzgenerators beträgt 1,5 kW bei einer Frequenz 27,12 MHz. Der Spektrometerteil besteht aus einer Czerny-Turner-Anordnung mit 1 m Brennweite, wodurch ein spektrales Auflösungsvermögen von 0,02 nm erreicht wird. Als Zerstäuber wurde, wie bereits oben erwähnt, ein pneumatischer Zerstäuber Typ Meinhard eingesetzt. Durch das Vorschalten einer peristaltischen Pumpe (7) wird einerseits ein sehr viel niedrigerer Probenverbrauch gegenüber dem freisagenden Zerstäuber von 0,9 gegen 2,5–3 ml/min erreicht und andererseits die Dichteabhängigkeit des Flüssigkeitsstromes durch die Kapillare des Zerstäubers praktisch eliminiert.

Die Messung von Al erfolgte bei $\lambda = 396,152\text{ nm}$ (8). Da die von der Fa. Instruments S.A. gelieferte Software des PDP-11/03-Prozeßrechners für die Auswertung und für die interne Monochromator-Shift-Kontrolle eine Referenzlinie benötigt, wurde in diesem Fall mit einer Ar-Linie von $\lambda = 394,898\text{ nm}$ (8) gearbeitet.

Abbildung 1 zeigt das verwendete Auswerteverfahren und die dazu benötigten Größen.

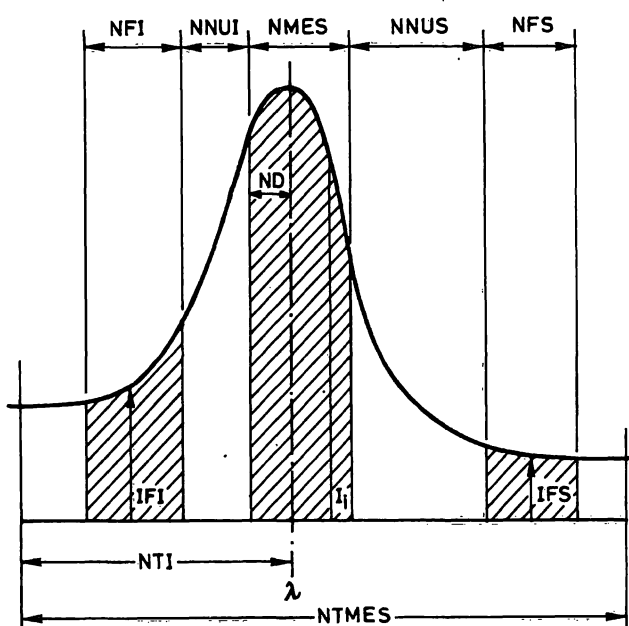


Abb. 1. Kenngrößen für die Peak-Auswertung bei der ICP-Emissionsspektroskopie.

Es bedeuten:

NTMES	= Anzahl der insgesamt gemessenen Kanäle	(50)
NTI	= Anzahl der gemessenen Kanäle links vom Peak	(26)
ND	= Anzahl der Kanäle zur Peakflächenbestimmung links vom Peak	(-5)
NMES	= Anzahl aller Kanäle für die Peakflächenbestimmung	(10)
NNUI	= nicht zur Berechnung verwendete Kanäle links	(11)
NNUS	= nicht zur Berechnung verwendete Kanäle rechts	(8)
NFI	= Anzahl der Kanäle für den linken Untergrund	(8)
NFS	= Anzahl der Kanäle für den rechten Untergrund	(10)

In Klammern sind die für die Al-Bestimmung verwendeten Parameter angegeben. Es wurde mit einer Schrittweite von 0,005 nm und einer Integrationszeit von 500 ms/Schritt gearbeitet.

Ergebnisse und Diskussion

Das Gerät wurde mit einer wäßrigen Standardlösung im Bereich von 10 $\mu\text{g/l}$ (ppb) bis 10 mg/l (ppm) kalibriert. Es ergab sich eine lineare Standardkurve. Durch Standard-

addition wurde überprüft, ob diese Standardkurve auch für die Bestimmung im Serum gültig ist. Es ergab sich eine gute Übereinstimmung in der Steigung und in den absoluten Zählraten. Darüber hinaus wurde eine analoge Standardkurve in *Herrmann'scher* Lösung (Riedel de Haen, Art. Nr. 38398), die in allen physikalischen und chemischen Eigenschaften dem Serum angepaßt ist, eingesetzt und gemessen. Dies diente dazu, eventuell auftretende systematische Fehler durch den Einfluß von Dichte, Viskosität, Oberflächenspannung und Ionisation im Plasma überprüfen zu können. Auch hier ergab sich eine sehr gute Übereinstimmung mit der wäßrigen Standardlösung.

Die mit diesem Verfahren erreichbare Nachweisgrenze liegt für Serum bei $10 \mu\text{g/l}$ (ppb) (definiert als 3 mal die Standardabweichung des Untergrundes an der Al-Meßlinie).

Als Mittelwert aus 20 Proben ergab sich eine Konzentration von

$$1,6 \pm 0,6 \mu\text{mol/l} \quad (42 \pm 16 \mu\text{g/l} \text{ (ppb)})$$

mit einem Bereich der Meßwerte von $0,74\text{--}2,78 \mu\text{mol/l}$ ($20\text{--}75 \mu\text{g/l}$ (ppb)) und einem Medianwert von $1,63 \mu\text{mol/l}$ ($44 \mu\text{g/l}$ (ppb)).

Der in der Literatur (3, 9, 10, 11) angegebene Wert schwankt zwischen $37\text{--}1460 \mu\text{g/l}$ (ppb). Die niedrigen Al-Konzentrationen sind dabei in besserer Übereinstimmung mit der angenommenen begrenzten Absorption bzw. Resorption von Al durch den menschlichen Organismus. Die ICP-Emissionsspektalanalyse als empfindliche und weitgehend störungsfreie Bestimmungsmethode kann dabei einen wichtigen Beitrag zur Klärung dieser Frage liefern. Aus den Ergebnissen kann man ersehen, daß die ICP-Emissionsspektalanalyse für die

Bestimmung von Al in Serumproben eine hohe und ausreichende Empfindlichkeit besitzt. Die erwartete Unabhängigkeit der Bestimmungsmethode von der Matrix konnte durch die Standard-Additionsmethode überprüft werden. Diese Methode ist bei dem hier gewählten Auswerteverfahren, bei dem der jeweilige Signal-Untergrund sehr genau bestimmt und vom Gesamtsignal subtrahiert wird, erlaubt und nicht mit einem systematischen Fehler behaftet. Durch die Verwendung einer peristaltischen Pumpe, die dem Zerstäuber eine gewisse Probenmenge aufzwingt, konnte auch der Einfluß der Dichte und der Viskosität eliminiert werden. Der Probenverbrauch beträgt etwa $0,9 \text{ ml/min}$, d. h. für eine Dreifachbestimmung werden etwa 3 ml Probenlösung bzw. $1,5 \text{ ml}$ Serum benötigt. Die Reproduzierbarkeit der Einzelmessungen ist natürlich abhängig von der Konzentration und kann bei etwa $20 \mu\text{g/l}$ (ppb) mit $\pm 8\text{--}10\%$ angenommen werden, bei höherer Konzentration sinkt der Wert auf unter $\pm 5\%$. Der totale Zeitbedarf für eine Analyse bestehend aus 3 Messungen je Probe beträgt etwa 5 min , wenn alle Kalibriergrößen bereits im Programm installiert sind. Da die Gerätefunktionen sehr stabil sind, sind Zwischenkalibrierungen nicht notwendig. Durch einen weiteren Programmausbau ist zusätzlich die Möglichkeit gegeben, auch andere Elemente, z. B. Cu, Fe oder Mn, aus der gleichen Probe in einem Schritt (beim Sequenzgerät allerdings nacheinander) zu messen. Insgesamt erscheint die ICP-Emissionsspektroskopie für dieses Anwendungsgebiet besser geeignet zu sein als die flammenlose Atomabsorptionsspektroskopie. Allerdings sind die Geräte sehr teuer und erfordern auch höher qualifiziertes Bedienpersonal, so daß der Einsatz in der Routine noch problematisch erscheint.

Literatur

1. Ondreicka, R., Ginter, E. & Kortus, J. (1966), *Brit. J. Ind. Med.* **23**, 305–312.
2. Berlyne, G. M., Yagil, R., Ben-Ari, J., Weinberger, G., Knopf, E. & Danovitch, G. M. (1972), *Lancet* **I**, 564–568.
3. Sorensen, J. R. J., Campbell, I. R., Tepper, L. B. & Ling, R. D. (1974), *Environ. Health Perspect.* **7**, 3–95.
4. Alfrey, A. C., Le Gendre, G. R. & Kaehny, W. D. (1976), *New Engl. J. Med.* **294**, 184–189.
5. Schramel, P., unveröffentlicht.
6. Schramel, P. & Ovcac-Pavlu, J. (1979), *Fresenius Z. Anal. Chem.* **298**, 28–31.
7. Schramel, P. (1979), *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **169**, 255–258.
8. Winge, R. K., Peterson, V. J. & Fassel, V. A. (1979), *Appl. Spectrosc.* **33**, 206–219.
9. Iyengar, G. V., Kollmer, W. E. & Bowen, H. J. M. (1978), *The Elemental Composition of Human Tissues and Body Fluids*, Verlag Chemie, Weinheim.
10. Berlyne, G. M., Ben-Ari, J., Pest, D., Weinberger, J., Stern, M., Gilmore, G. R. & Levine, R. (1970), *Lancet* **II**, 494–496.
11. Fuchs, C., Bransche, M., Paschen, K., Nordbeck, H. & Quellhorst, E. (1974), *Clin. Chim. Acta* **52**, 71–80.

Dr. Peter Schramel
Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung mbH
Institut für Angewandte Physik
Physikalisch-Technische Abteilung
D-8042 Neuherberg